บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ทดสอบการ pretreatment ที่มีผลต่อความอยู่รอดของรังไข่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร

4.1.1 ผลของการแช่รังไข่ด้วย BAP ร่วมกับให้ความเย็น ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารต่ออัตราการอยู่รอดของรังไข่

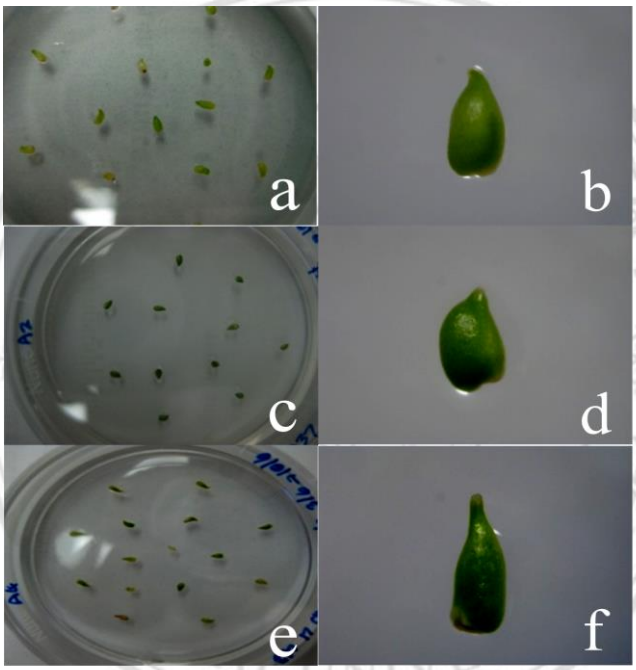
จากการทดลองแช่รังไข่ด้วย BAP ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0 0.1 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณภูมิ 8-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 24 และ48 ชั่วโมง พบว่าการใช้ BAP ความเข้มข้นสูงกว่า 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้อัตราความอยู่รอดของรังไข่ลดลงหลังนำมาเพาะเลี้ยงรังไข่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและไม่เกิดการพัฒนาเมื่อแช่มากกว่า 48 ชั่วโมง รังไข่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหมดและไม่พบการพัฒนา ทั้งนี้มีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องด้วยหลายปัจจัย เช่น ความสมบูรณ์ของช่อดอก ระยะเวลา และอุณหภูมิในการแช่ รวมถึงสูตรอาหารที่ใช้ ในการทดลอง มีความแปรปรวนของข้อมูลสูงจึงไม่สามารถสรุปผลออกมาเป็นตัวเลขได้เนื่องจากหลายกรรมวิธี ไม่พบการพัฒนาตั้งแต่ 5 วันแรกหลังนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร ซึ่งอาจเกิดจากความสมบูรณ์ขอต้นที่นำดอกมาใช้เนื่องจากในช่วงแรกของการทดลองต้นที่ใช้ยังมีความสมบูรณ์ต่ำถึงแม้จะเป็นดอกที่มีระยะห่างจาก auricle เท่ากัน และสูตรอาหารยังไม่เหมาะสมกับการทดลอง ทั้งนี้ได้ทดลองนำรังไข่ที่ผ่านการแช่ด้วย BAP ทั้ง 6 ระดับ เป็นเวลา 14 วัน ไปเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมง/วันพบว่ารังไข่ที่ถูกแช่ด้วย BAP ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มการพัฒนาเป็นสีเขียวได้ดีกว่ารังไข่ที่ถูกแช่ด้วย BAP ความเข้มข้นต่ำ

4.1.2 ผลจากการทดลองตัดและไม่ตัดส่วนของ stigma ออกจาก รังไข่

จากการทดลองเพาะเลี้ยงรังไข่ที่ตัดและไม่ตัดส่วนของ stigma ออกบนอาหาร 3 สูตร คือ O2 A2 และ A4 พบว่ามีการพัฒนาที่แตกต่างกันคือ บนอาหาร O2 รังไข่มีการขยายออกทางด้านความกว้างและความยาวเท่าๆ กัน มีสีเขียวอ่อนส่วนใหญ่จะมีสีเขียวเพียงครึ่งเดียวอีกครึ่งหนึ่งจะมีสีขาว

หรือสีเหลืองอ่อน บนอาหาร A2 รังไข่ มีการขยายออกทางด้านความกว้างมากกว่าความยาว มีสีเขียวเข้มทั้งชิ้นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น และบนอาหาร A4 มีการขยายออกทางด้านความกว้างน้อยกว่าความยาว (ภาพที่ 4.1)

การตัด stigma ออกจากรังไข่มีผลทำให้เกิดสารประกอบฟีโนลิกมากกว่ารังไข่ที่ไม่ตัด stigma ออก และยังมีผลทำให้รังไข่มีการเจริญและพัฒนาช้ากว่ารังไข่ที่ไม่ตัด stigma แต่เมื่อย้ายรังไข่ที่เกิดสารประกอบฟีโนลิกออกจากอาหารเดิม แล้ววางบนอาหารใหม่พบการพัฒนาใกล้เคียงกัน



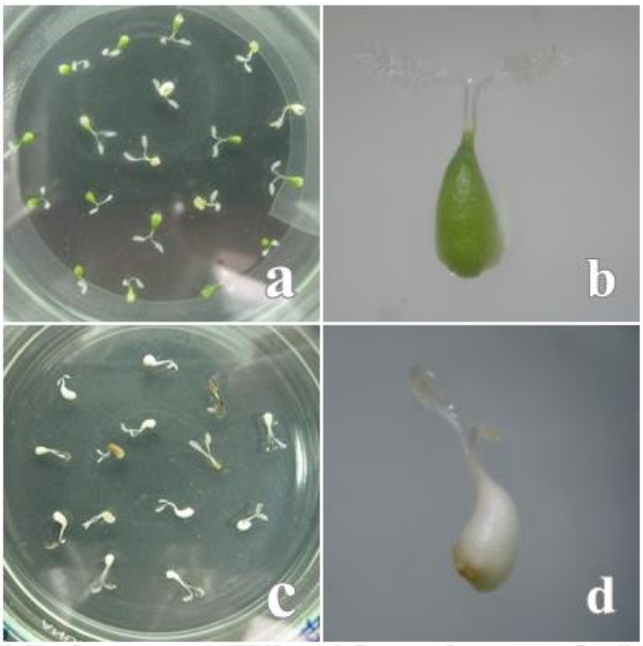
ภาพที่ 4.1 รูปแบบการพัฒนาของรังไข่ที่ตัด stigma ออก หลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร (a) (b) สูตร O2 (c) (d) สูตร A2 และ (e) (f) สูตร A4 เป็นเวลา 30 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 ผลจากการทดลองเพาะเลี้ยงรังไข่ ในสภาพมีแสงและไม่มีแสง

การเปรียบเทียบอัตราการอยู่รอด การเจริญและพัฒนาของรังไข่ในสภาพมีแสงและไม่มีแสง ในสภาพมีแสงให้แสง 16 ชั่วโมง และมืด 8 ชั่วโมง ส่วนในสภาพไม่มีแสงคือมืดตลอดเวลา บนอาหารสูตร O2 เป็นเวลา 20 วัน (ภาพที่ 4.2) พบว่าในสภาพมีแสงรังไข่ยังคงสภาพเป็นสีเขียว 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในสภาพไม่มีแสงพบรังไข่ส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็นสีขาว บางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแต่ไม่อาจสรุปได้ว่ารังไข่ที่เปลี่ยนเป็นสีขาวหรือสีน้ำตาลนั้นตายหรือหยุดการพัฒนา เพราะในการทดลองต่อมาพบการเกิดแคลลัสจากรังไข่ที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ในสภาพมีแสงรังไข่มีการขยายขนาดน้อยกว่า

รังไข่ที่อยู่ในสภาพไม่มีแสง หลังเพาะเลี้ยงทั้งในสภาพมีแสงและไม่มีแสงมากกว่า 50 วัน รังไข่จึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และไม่พบการพัฒนาอย่างอื่น



ภาพที่ 4.2 ความแตกต่างของรังไข่หลังจากเพาะเลี้ยงในสภาพมีแสงและไม่มีแสงบนอาหารสูตร O2 เป็นเวลา 20 วัน (a) (b) ในสภาพมีแสง และ (c) (d) ในสภาพไม่มีแสง

4.3 ผลของการเลี้ยงร่วมกันระหว่างรังไข่และอับเรณู

จากการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงรังไข่ร่วมกับอับเรณูแบบตัดแยกออกจากกันวางบนอาหารแยกชิ้นกัน และไม่ตัดแยกออกจากกัน พบว่าการเพาะเลี้ยงรังไข่ร่วมกับอับเรณูแบบตัดแยกออกจากกัน สามารถการชักนำให้เกิดแคลลัสจากรังไข่ได้ในหลายรูปแบบ ส่วนการเพาะเลี้ยงรังไข่ร่วมกับอับเรณูแบบไม่ตัดแยกกัน และเพาะเลี้ยงรังไข่อย่างเดียวบนอาหารไม่พบการสร้างแคลลัสจากรังไข่โดยลักษณะการเกิดแคลลัสจากรังไข่ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูแบบไม่ตัดแยกออกจากกันมีรูปแบบการเกิดแคลลัส 3 รูปแบบ คือ

1) เกิดแคลลัสจากรังไข่ที่มีลักษณะเป็นสีน้ำตาล โดยเพาะเลี้ยงรังไข่ร่วมกับอับเรณูประมาณ 30-60 วัน บนอาหารสูตร A2 จากข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) (ภาพที่ 4.3) และข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) บนอาหารสูตร A3 จากข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) และสายพันธุ์ 325(3)-(1) (ภาพที่ 4.4) ซึ่งสามารถเกิดได้ทั้งในสภาพที่ให้แสงและในสภาพไม่ให้แสง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

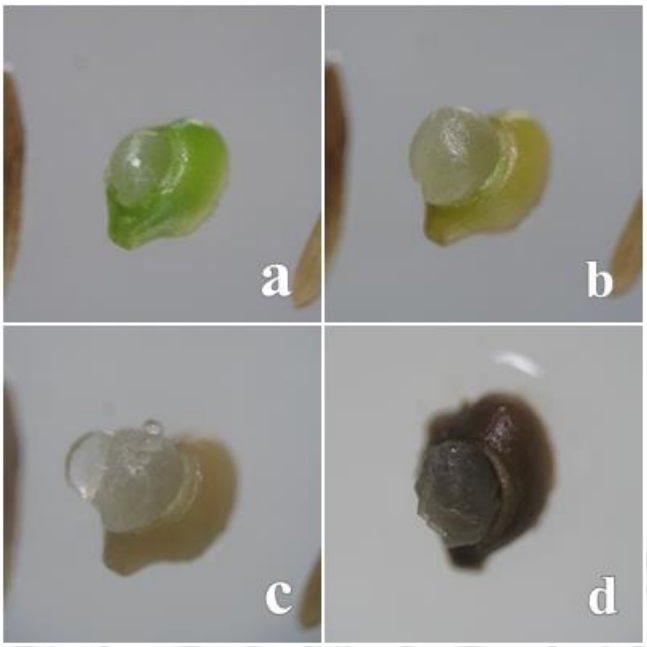
ภาพที่ 4.3 ลักษณะการเกิดแคลลัสจากรังไข่ (ศรชี้) ของข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A2 เป็นเวลา 53 วัน ในสภาพมีแสง

ภาพที่ 4.4 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 325(3)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน ในสภาพไม่มีแสง

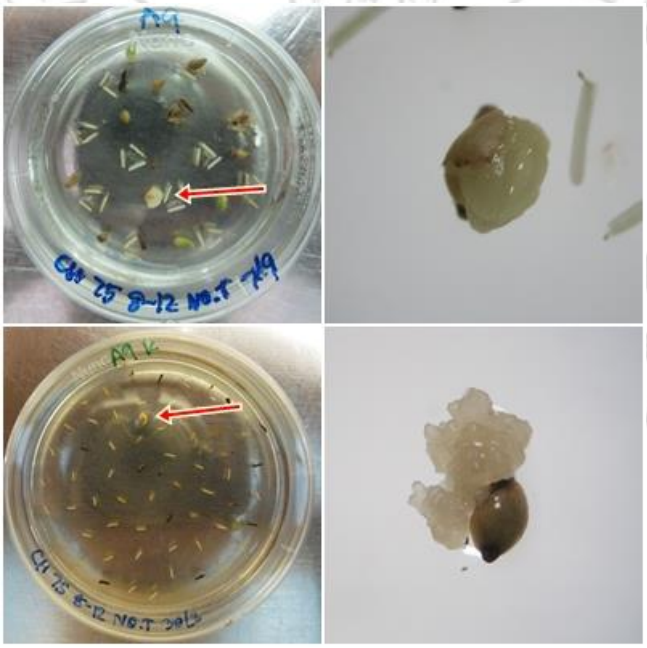
2) การเกิดแคลลัสจากรังไข่ที่เป็นสีเขียว โดยเพาะเลี้ยงรังไข่ร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 เป็นเวลา 10 วันในสภาพมีแสง ซึ่งเกิดแคลลัสจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH71 (ภาพที่ 4.5) อย่างไรก็ตามพบว่าแคลลัสที่เกิดได้หยุดการพัฒนาหลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร 30 วัน

3) การเกิดแคลลัสจากรังไข่ที่บวมเป็นสีขาว โดยเพาะเลี้ยงรังไข่ร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 ในสภาพให้ได้รับแสง รังไข่เกิดแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงประมาณ 60 วัน จากข้าวสายพันธุ์ CH75 (ภาพที่ 4.6)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.5 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ที่เป็นสีเขียวของข้าวสายพันธุ์ CH71 หลังเพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 (a) หลังจากเพาะเลี้ยง 10 วัน (b) หลังจากเพาะเลี้ยง 14 วัน (c) หลังจากเพาะเลี้ยง 16 วัน และ (d) หลังจากเพาะเลี้ยง 30 วัน ในสภาพมีแสง

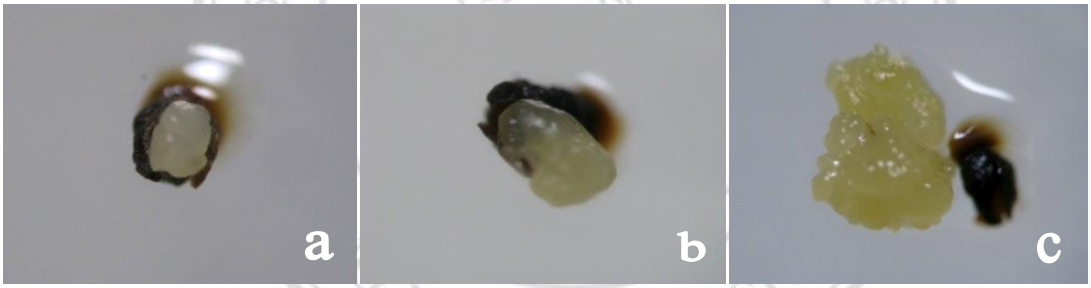


ภาพที่ 4.6 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75บนอาหารสูตร A3 หลังจากเพาะเลี้ยง 60 วัน

4.4 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของรังไข่และอับเรณู

4.4.1 การชักนำให้เกิดแคลลัสจากรังไข่

จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร A3 (N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 40 กรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงที่สุด 10.85 เปอร์เซ็นต์ จากสายพันธุ์ CH75 รองลงมาคือสูตร A2 (N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 7.03 เปอร์เซ็นต์ จากสายพันธุ์ CH75 (ตารางที่ 4.1) บนอาหารสูตร A3 รังไข่สร้างแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงประมาณ 45 วัน ซึ่งเกิดแคลลัสจากรังไข่ที่มีลักษณะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.7) ส่วนแคลลัสที่เกิดบนอาหารสูตร A2 รังไข่สร้างแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงประมาณ 35 วัน ซึ่งเกิดแคลลัสจากรังไข่ที่มีลักษณะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร A3 (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.7 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1)ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 (a) หลังเพาะเลี้ยง 45 วัน (b) หลังจากเพาะเลี้ยง 50 วัน และ (c) หลังจากเพาะเลี้ยง 60 วัน ในสภาพมีแสง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) 325(3)-(1) CH71 และ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรต่างๆ เป็นเวลา 10-45 วัน

สูตรอาหาร	สายพันธุ์			
	237(4)	325(3)-(1)	CH71	CH75
A1	0.81 ab	0.76 bc	4.03 ab	3.10 c
A2	2.26 ab	2.26 ab	5.34 a	7.03 b
A3	2.99 a	3.85 a	6.57 a	10.85 a
A4	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
A5	1.47 ab	2.96 a	3.76 ab	3.20 c
A6	0.76 ab	0.00 c	2.22 bc	1.59 c
O1	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
O2	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c

ค่าที่ตามด้วยอักษรตัวเดียวกันในสดมภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ :

A1 คือ N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A2 คือ N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A3 คือ N6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A4 คือ MS ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

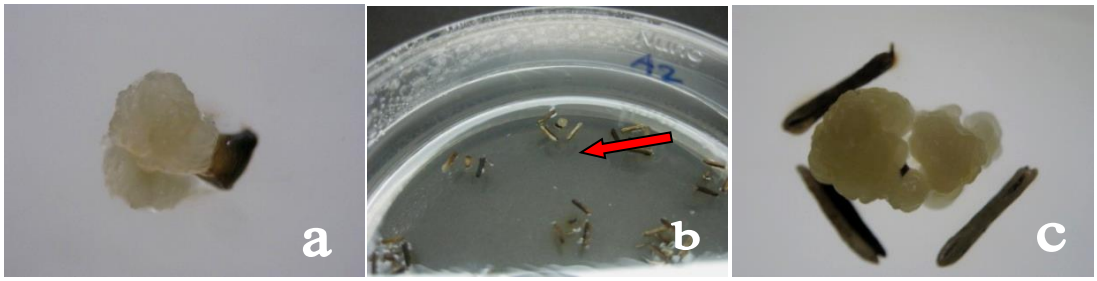
A5 คือ Chu-2 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A6 คือ N6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร sorbitol 20 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 40 กรัมต่อลิตร

O1 คือ N6 ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

O2 คือ N6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 40 กรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.8 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A2 (a) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน (b) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 53 และ (c) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 58 วัน ในสภาพมีแสง

เมื่อนำรังไข่ของทุกสายพันธุ์มาทดสอบบนอาหารสูตร A2 พบว่า สายพันธุ์ CH75 สามารถเกิดแคลลัสสูงสุด 4.44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สายพันธุ์ 410(4)-(1) 2.08 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธุ์ CH71 2.04 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3) รังไข่ของข้าวแต่ละสายพันธุ์จะใช้เวลาในการสร้างแคลลัสประมาณ 40-60 วัน ซึ่งแคลลัสส่วนใหญ่เกิดจากรังไข่ที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะของแคลลัสที่เกิดมีสีเหลืองอ่อน และสีขาว แคลลัสส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นแคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะตัวกันแน่น (compact callus) มีการแบ่งเซลล์ และขยายขนาดอย่างรวดเร็ว แคลลัสส่วนหนึ่งเกิดสารประกอบฟีนอลิกบริเวณผิวสัมผัสระหว่างอาหารกับก้อนแคลลัส จึงต้องมีการย้ายเปลี่ยนอาหารเพื่อลดความเสียหายที่เกิดกับก้อนแคลลัส

4.4.2 การชักนำให้เกิดแคลลัสจากอับเรณู

ผลการทดสอบเพาะเลี้ยงอับเรณูบนอาหารสูตรต่างๆ พบว่าอาหารสูตรที่มีประสิทธิภาพสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากอับเรณูของข้าวทุกสายพันธุ์ที่นำมาเพาะเลี้ยง คือ อาหารสูตร A2 (N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด 16.23 และ 15.67 เปอร์เซ็นต์ จากสายพันธุ์ 325(3)-(1) และ 237(4)-(1) ตามลำดับ รองลงมาคือสูตร A4 (MS ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 7.87 เปอร์เซ็นต์ จากสายพันธุ์ 237(4)-(1) (ตารางที่ 4.2) ส่วนการทดสอบการตอบสนองต่อสูตรอาหารนั้นพบว่าข้าวสายพันธุ์ 282(3)-(1) ตอบสนองต่ออาหารสูตร A2 ดีที่สุด สามารถสร้างแคลลัสสูงสุด 8.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สายพันธุ์ 410(4)-(1) 8.46 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธุ์ 325(3)-(1) 7.82 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) 325(3)-(1) CH71 และ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรต่างๆ เป็นเวลา 40-50 วัน

สูตรอาหาร	สายพันธุ์			
	237(4)-(1)	325(3)-(1)	CH71	CH75
A1	5.12 bc	4.53 b	2.84 a	1.96 a
A2	15.67 a	16.23 a	2.26 ab	2.67 a
A3	5.31 bc	3.54 b	0.89 bc	1.24 a
A4	7.87 b	5.56 b	0.95 bc	1.74 a
A5	6.73 bc	2.79 b	0.88 bc	0.85 a
A6	4.96 bc	5.22 b	1.49 abc	1.01 a
O1	3.49 c	3.64 b	0.39 c	1.22 a
O2	3.86 c	1.89 b	0.28 c	1.02 a

ค่าที่ตามด้วยอักษรตัวเดียวกันในสดมภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ :

A1 คือ N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A2 คือ N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A3 คือ N6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A4 คือ MS ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A5 คือ Chu-2 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร

A6 คือ N6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร sorbitol 20 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 40 กรัมต่อลิตร

O1 คือ N6 ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

O2 คือ N6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 40 กรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ต่างๆ บนอาหารสูตร A2 (N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 40-60 วัน

สายพันธุ์	จำนวนที่เพาะเลี้ยง		จำนวนที่สร้างแคลลัส		การเกิดแคลลัส (%)	
	อับเรณู	รังไข่	อับเรณู	รังไข่	อับเรณู	รังไข่
29(3)-(1)	482	45	10	0	2.07 de	0.00 b
170-(1)	520	45	28	0	5.38 abcd	0.00 b
158(3)-(1)	449	48	22	0	4.90 bcde	0.00 b
163(4)-(1)	551	50	9	1	1.63 e	2.00 ab
237(4)-(1)	550	53	31	1	5.64 abcd	1.89 ab
282(3)-(1)	493	48	42	0	8.52 a	0.00 b
318(4))-(1)	472	45	33	0	6.99 ab	0.00 b
325(3)-(1)	665	50	52	1	7.82 ab	2.00 ab
410(4)-(1)	520	48	44	1	8.46 a	2.08 ab
437(2)(4)-(1)	672	52	42	1	6.25 abc	1.92 ab
CH71	610	49	28	1	4.59 bcde	2.04 ab
CH75	670	45	19	2	2.84 cde	4.44 a
รวม	6654	578	360	14	5.41	2.60

ค่าที่ตามด้วยอักษรตัวเดียวกันในสดมภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ในการเพาะเลี้ยงอับเรณูนำอับเรณูผ่านความเย็น 8-10 องศาเซลเซียสนาน 8-10 วัน และมีละอองเรณูอยู่ในระยะการพัฒนาช่วงกลางถึงช่วงท้ายของการเกิดนิวเคลียสเดียว ภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารประมาณ 8-15 วัน อับเรณูส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและดำ มีเพียงบางส่วนที่ไม่เปลี่ยนสี และภายหลังการเพาะเลี้ยงประมาณ 40 วัน อับเรณูบางส่วนจะเริ่มสร้างแคลลัสจากทั้งอับเรณูที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและอับเรณูที่ไม่เปลี่ยนสี โดยมีการปริแตกออกของอับเรณูและพบการเกิดแคลลัสขนาดเล็กในรูปแบบต่างๆ หลายตำแหน่งบนอับเรณูอันเดียวกัน ซึ่งแคลลัสที่เกิดมีสีเหลืองอ่อนและสีขาว (ภาพที่ 4.9) แคลลัสที่เกิดจากอัยเรณูมีลักษณะทั้งที่เป็นกลุ่มเซลล์เกาะตัวกันแน่น และแคลลัสที่กลุ่มเซลล์เกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4.9 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสจากอับเรณูของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับรุ่นที่ BC_3F_6 ที่ได้จากคู่ผสม Rathu Heenati/KDML 105 ในรูปแบบต่างๆ หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 50 วัน

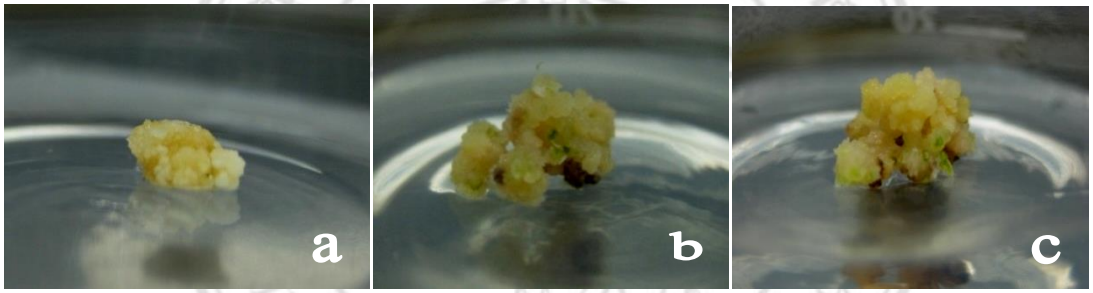
4.5 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของรังไข่และอับเรณู

4.5.1 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่

จากการทดสอบสูตรอาหารสำหรับการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 พบว่าอาหารสูตร AR1 (MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร sucrose 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 2.5 กรัมต่อลิตร) ระดับ pH 5.8 มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการชักนำให้เกิดต้น โดยให้เปอร์เซ็นต์การขยายขนาดของแคลลัสสูงสุด 74.63 เปอร์เซ็นต์ เกิดราก 2.99 เปอร์เซ็นต์ เกิดจุดเขียว 65.67 เปอร์เซ็นต์ เกิดต้นเผือก 2.99 เปอร์เซ็นต์ และชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส 7.46 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสูตร AR2 (MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 20 กรัมต่อลิตร) ให้เปอร์เซ็นต์การขยายขนาดของแคลลัส 52.38 เปอร์เซ็นต์ เกิดจุดเขียว 33.33 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบการเกิดราก และไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ (ตารางที่ 4.4)

เมื่อนำแคลลัสที่เกิดจากการพัฒนาของรังไข่ใน 2 รูปแบบ คือ แคลลัสจากส่วนของรังไข่ที่เป็นสีขาว และจากแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ซึ่งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มาทดสอบวางบนอาหารสูตรชักนำให้

เกิดต้น AR1 พบว่าแคลลัสทั้งจากรังไข่ที่เป็นสีขาวและแคลลัสจากรังไข่ซึ่งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเกิดการแบ่งตัวและมีการพัฒนาเป็นจุดสีเขียวและยอดได้เช่นเดียวกัน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 24 วัน (ภาพที่ 4.10) แต่แคลลัสที่เกิดจากรังไข่ที่เป็นสีขาวมีแนวโน้มการพัฒนาที่ดีกว่าแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เกิดการพัฒนาเป็นจุดเขียวและยอดจากแคลลัสสายพันธุ์ 325(3)-(1) (ภาพที่ 4.11) 437(2)(4)-(1) CH71 และ CH75 แต่ยอดที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายก่อนที่จะพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์มีเพียงสายพันธุ์ CH75 สามารถพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ได้ก่อนที่ต้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.12) ซึ่งในการทดลองนี้สามารถชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์จำนวน 5 ต้น และเกิดต้นเผือกจำนวน 3 ต้น (ภาพที่ 4.13) นำต้นที่ได้ทั้งหมดมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน และเพิ่มจำนวนต้นข้าวด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป



ภาพที่ 4.10 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) หลังจากวางบนอาหารสูตร AR1 (a) เป็นเวลา 10 วัน และ (b) (c) เป็นเวลา 24 วัน

ภาพที่ 4.11 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่สายพันธุ์ 325(3)-(1) บนอาหารสูตร AR1 หลังเพาะเลี้ยง 28 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4.12 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัส ที่เกิดจากรังไข่สายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นสูตร AR1 (a) หลังเพาะเลี้ยง 30 วัน และ (b) (c) หลังเพาะเลี้ยง 33 วัน

ภาพที่ 4.13 ลักษณะการพัฒนาของข้าวต้นเผือก จากแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 หลังวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 21 วัน

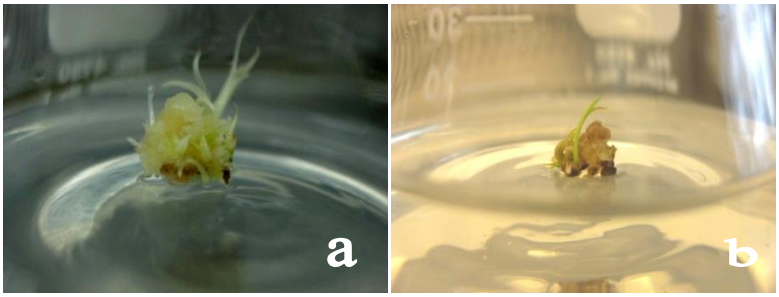
4.5.2 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จากเพาะเลี้ยงอับเรณู

ในการทดลองนี้ใช้แคลลัสที่เกิดจากอับเรณูของข้าวทั้งหมด 5 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 163(4)-(1) 170-(1) 237(4)-(1) 318(4))-(1) 437(2)(4)-(1) CH71 และ CH75 ใช้แคลลัสขนาด 2-3 มิลลิเมตรขึ้นไป ใช้อาหารสูตร AR1 AR2 OR1 และ OR2 เพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิและแสง โดยให้แสง 16 ชั่วโมง และมืด 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 26 ±2 องศาเซลเซียส โดยแคลลัสทั้งหมดผ่านการวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 3 วัน เพื่อลดอิทธิพลของฮอร์โมนจากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารสูตร OR2 (N6 ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร sucrose 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 2.5 กรัมต่อลิตร) ระดับ pH 5.8 ให้เปอร์เซ็นต์การขยายขนาดของแคลลัสสูงสุด 86.00 เปอร์เซ็นต์ เกิดราก 8.00

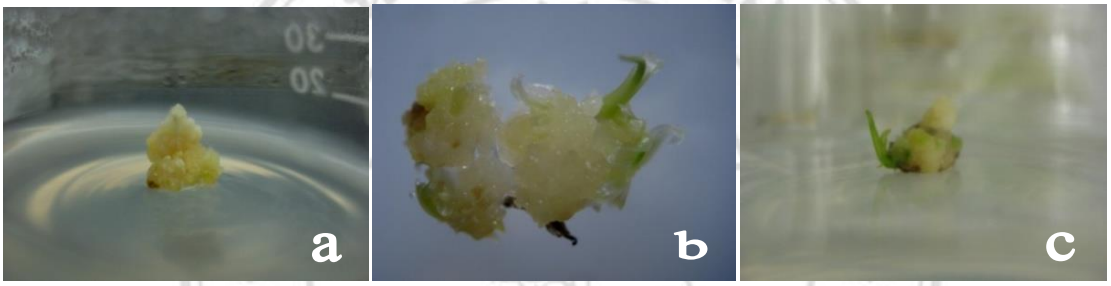
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เปอร์เซ็นต์ เกิดจุดเขียว 18.00 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการเกิดต้นเผือก และไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ได้ ส่วนอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่เกิดจากอับเรณู คือ อาหารสูตร AR1 (MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 30 กรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่เกิดจากอับเรณูได้ 3.75 เปอร์เซ็นต์ เกิดต้นเผือก 1.25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังให้เปอร์เซ็นต์การขยายขนาดของแคลลัส 85.00 เปอร์เซ็นต์ เกิดราก 2.50 เปอร์เซ็นต์ และเกิดจุดเขียว 18.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4)

จากการทดลองยังพบว่าอาหารสูตร AR2 สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดได้ โดยแคลลัสที่วางบนอาหารสูตร AR2 เจริญและพัฒนาได้ช้ากว่าสูตร AR1 โดยอาหารสูตร AR1 ใช้เวลาในการพัฒนาเป็นยอด 15 วัน ส่วนอาหารสูตร AR2 ใช้เวลาในการพัฒนาเป็นยอด 40 วัน แต่พบการพัฒนาเป็นต้นเผือกบนอาหารสูตร AR2 การพัฒนาส่วนใหญ่เกิดจากก้อนแคลลัสที่มีการแบ่งตัวจนมีขนาดประมาณ 3-5 มิลลิเมตร และเกิดการพัฒนาหลายจุดบนแคลลัสก้อนเดียวกัน สายพันธุ์สามารถพัฒนาเป็นยอดได้คือ สายพันธุ์ 163(4)-(1) 318(4)-(1) 437(2)(4)-(1) CH71 และ CH75 ซึ่งสามารถจำแนกลักษณะการเจริญของแคลลัสภายหลังการเพาะเลี้ยงออกเป็นกลุ่มๆ ได้ ดังนี้ แคลลัสกลุ่มหนึ่งมีการแบ่งตัวและขยายขนาดแล้วเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาล (browning) จากนั้นจึงเกิดการพัฒนาไปเป็นยอดได้ แต่ส่วนใหญ่ยอดที่พัฒนาขึ้นมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สีดำ และตายภายใน 5 -10 วัน ก่อนที่จะพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ในขณะที่อีกกลุ่มแบ่งตัวและขยายขนาดใหญ่ขึ้น โดยไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แคลลัสในกลุ่มนี้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโดยอาจมีการพัฒนาในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ การเกิดเกิดจุดเขียว ราก หรือยอด และการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ซึ่งมีทั้งต้นสีเขียว และต้นเผือก (ภาพที่ 4.14) ในการทดลองนี้สามารถชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์จากแคลลัสที่ได้จากอับเรณูของข้าวสายพันธุ์ CH75 จากอาหารสูตร AR1 จำนวน 3 ต้น และเกิดต้นเผือกจากอาหารสูตร AR1 จำนวน 1 ต้น จากอาหารสูตร AR2 จำนวน 4 ต้น โดยแคลลัสที่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ผ่านการวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร AR1 ประมาณ 10-14 วัน แคลลัสจึงพัฒนาเป็นยอด และพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 17 วัน (ภาพที่ 4.15) เมื่อต้นยอดของต้นข้าวมีอายุ 20 วัน จึงย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพื่อเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นที่สมบูรณ์และขยายพันธุ์ต่อไป (ภาพที่ 4.16)



ภาพที่ 4.14 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสจากอับเรณูไปเป็นยอดหรือต้น หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นเป็นเวลา 23 วัน (a) แคลลัสที่มีการพัฒนาเป็นต้นเผือก และ (b) แคลลัสที่มีการพัฒนาเป็นต้นสีเขียว



ภาพที่ 4.15 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสจากอับเรณูสายพันธุ์ CH75 (a) ลักษณะของแคลลัสสายพันธุ์ CH75 หลังวางบนอาหารสูตร AR1 เป็นเวลา 7 วัน (b) ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสสายพันธุ์ CH75 ซึ่งผ่านการวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 3 วัน ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตร AR1 เป็นเวลา 14 วัน และ (d) แคลลัสที่พัฒนาเป็นต้นสีเขียวบนอาหารสูตร AR1 หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 17 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นสูตรต่างๆ

แหล่งแคลลัส*	อาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยง	แคลลัสที่เกิด browning (%)	แคลลัสที่มีการขยายขนาด (%)	แคลลัสที่มีการเปลี่ยนแปลง (%)			
					เกิดราก	เกิดจุดเขียว	ต้นเขียว	ต้นเผือก
อับเรณู	AR1	80	55.00	85.00	2.50	18.75	3.75	1.25
	AR2	120	41.67	47.50	3.33	21.67	0	3.33
	OR1	96	33.33	53.13	6.25	10.42	0	0
	OR2	100	59.00	86.00	8.00	18.00	0	0
รังไข่	AR1	67	32.16	74.63	2.99	62.69	7.46	2.99
	AR2	84	52.08	52.38	0.00	33.33	0	0
	OR1	72	40.32	31.94	0.00	13.89	0	0
	OR2	65	22.10	52.31	1.54	23.08	0	1.54

หมายเหตุ

*แคลลัสที่นำมาใช้ในการทดลองผ่านการเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 3 วัน ก่อนนำมาวางลงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น

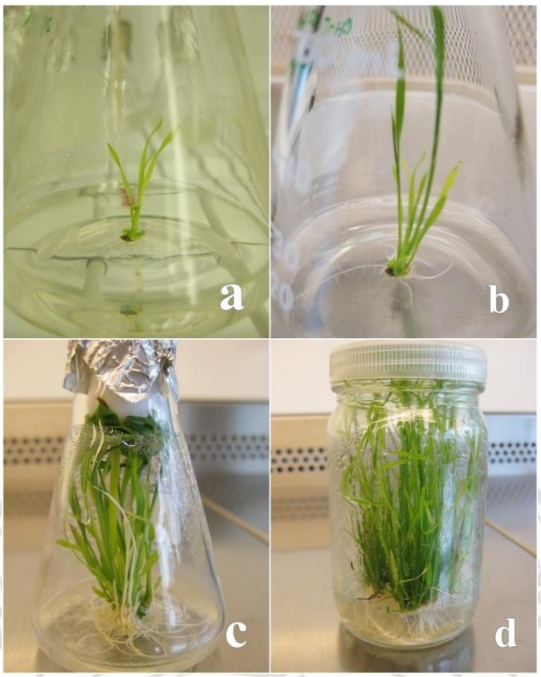
AR1 คือ MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 30 กรัมต่อลิตร

AR2 คือ MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 20 กรัมต่อลิตร

OR1 คือ N6 ที่เติม NAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 30 กรัมต่อลิตร

OR2 คือ N6 ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 30 กรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.16 ลักษณะต้นจากแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน (a) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 วัน (b) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 7 วัน (c) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 14วัน และ (d) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแตกกอ คือ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 21 วัน

4.6 การเพิ่มจำนวนโครโมโซม

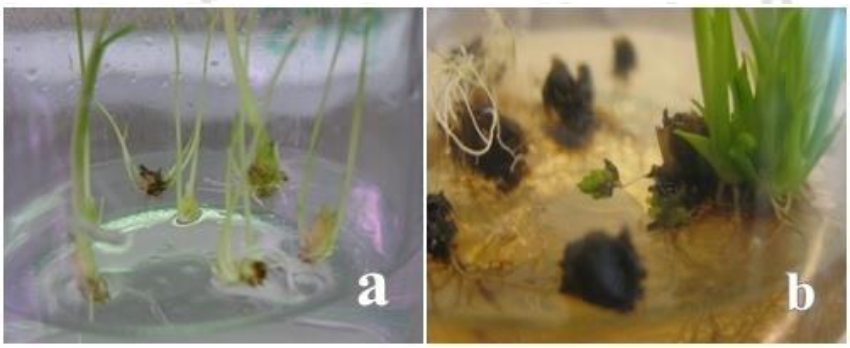
นำต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการชักนำให้เกิดต้น ตัดให้เหลือส่วนที่เป็นข้อซึ่งมีส่วนของตา แช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มเข้น 0 (ชุดควบคุม) 0.01 0.05 0.1 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) วางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายไปวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนและสารละลายโคลชิซิน พบว่าต้นข้าวภายหลังได้รับสารละลายโคลชิซิน 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 0 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายที่ 62 34 และ 15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการรอดตาย ส่วนการแช่ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดตายต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นเดียวกัน คือ ความเข้นข้น 0 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือความเข้มข้น 0.01 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายที่ 83.33 และ 42.22 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และไม่พบการรอดตายที่ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.5)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.5 อัตราการรอดตายของต้นข้าวแฮพลอยด์หลังถูกแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการแช่สารต่างกัน

ระยะเวลา (ชม.)	ความเข้มข้น (%)	จำนวนต้นที่แช่สาร (ต้น)	จำนวนต้นที่รอดชีวิต (%)
24	0	44	100
	0.01	46	100
	0.05	38	61.54
	0.10	42	34.15
	0.20	48	14.58
	0.30	50	6.00
48	0	44	100
	0.01	42	83.33
	0.05	45	42.22
	0.10	44	18.18
	0.20	40	4.35
	0.30	40	0

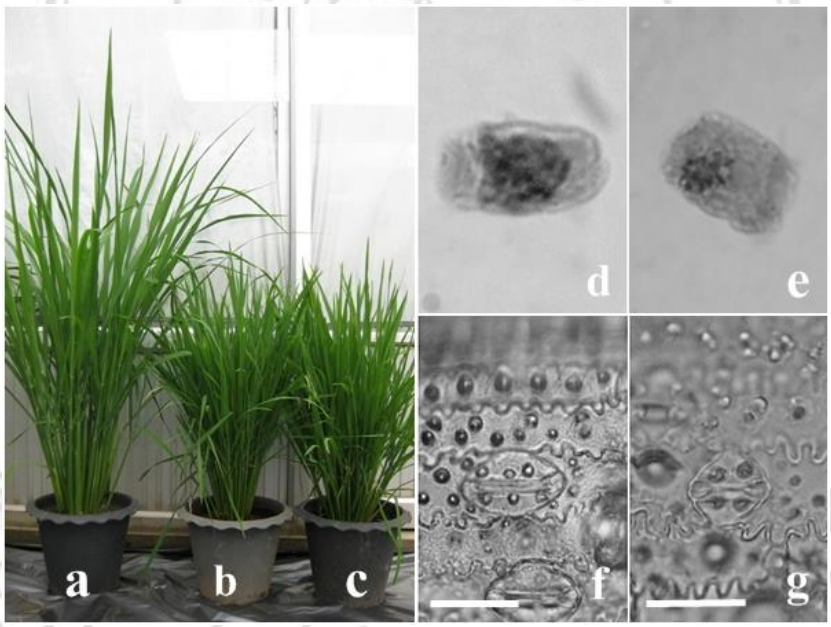
ต้นข้าวที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นมากกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและดำ เกิดสารประกอบฟีโนลิกที่เนื้อเยื่อ และบนอาหารรอบๆ บริเวณที่วางต้นข้าว ส่งผลทำให้ต้นอ่อนที่เกิดจากลำต้นหลักไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้และตาย ถึงแม้จะมีการย้ายต้นข้าวลงอาหารใหม่ก็ตาม (ภาพที่ 4.17)



ภาพที่ 4.17 ลักษณะของต้นข้าวแฮพลอยด์บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน หลังถูกแช่ในสารละลายโคลชิซิน (a) ความเข้มข้น 0.01 และ (b) 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.7 การศึกษาจำนวนโครโมโซม และตรวจสอบเซลล์ชั้นผิวของใบ

จากการตรวจสอบจำนวนโครโมโซม และเซลล์ชั้นผิวของใบข้าว พบว่าต้นข้าวที่เกิดจากการชักนำให้เกิดต้นจากรังไข่ และอับเรณูมีลักษณะที่เป็นต้นแฮพลอยด์ คือ มีจำนวนโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่งของต้นปกติ ซึ่งต้นแฮพลอยด์ที่ได้มีจำนวนโครโมโซม 2n=12 ส่วนต้นปกติมีจำนวนโครโมโซม 2n=24 (ภาพที่ 4.18) จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมของต้นแฮพพลอย์ 3.40 ± 0.70 อัน ขณะที่ต้นปกติมีจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อเซลล์คุม 5.36 ± 0.66 อัน ลักษณะของเซลล์คุมของต้นที่เป็นแฮพลอยด์และต้นต้นปกติ มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยในกลุ่มของต้นที่เป็นแฮพลอยด์ เซลล์คุมมีลักษณะป้อม ค่อนข้างกลมมากกว่าต้นปกติที่มีรูปร่างรีคล้ายลูกรักบี้ นอกจากนี้ขนาดของเซลล์ยังมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยขนาดของเซลล์คุมของต้นแฮพลอยด์เท่ากับ 13.66 ± 1.35 x 16.66 ± 1.65 ไมโครเมตร ส่วนต้นปกติมีขนาดเซลล์คุม 20.66 ± 2.49 x 28.74 ± 2.26 ไมโครเมตร (ตารางที่ 4.6)



ภาพที่ 4.18 ลักษณะของต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นข้าวแฮพลอยด์หลังจากย้ายลงปลูกในกระถางเป็นเวลา 80 วัน (a) ต้นปกติ (b) ต้นแฮพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (c) ต้นแฮพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับเรณู (d) จำนวนโครโมโซมจากต้นปกติ (e) จำนวนโครโมโซมจากต้นแฮพลอยด์ (f) จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมของต้นปกติ และ (g) จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมของต้นแฮพลอย์ (bar = 20 μM)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.6 ขนาดเซลล์คุมปากใบ และจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมปากใบ ของต้นแฮพลอยด์และต้นปกติ

ลักษณะต้น	ความกว้าง[1]	ความยาว[1]	จำนวนคลอโรพลาสต์[2]
ต้นแฮพลอยด์	13.66 ± 1.35 b	16.66 ± 1.65 b	3.40 ± 0.70 b
ต้นปกติ	20.66 ± 2.49 a	28.74 ± 2.26 a	5.36 ± 0.66 a

ค่าที่ตามด้วยอักษรตัวเดียวกันในสดมภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 60 เซลล์

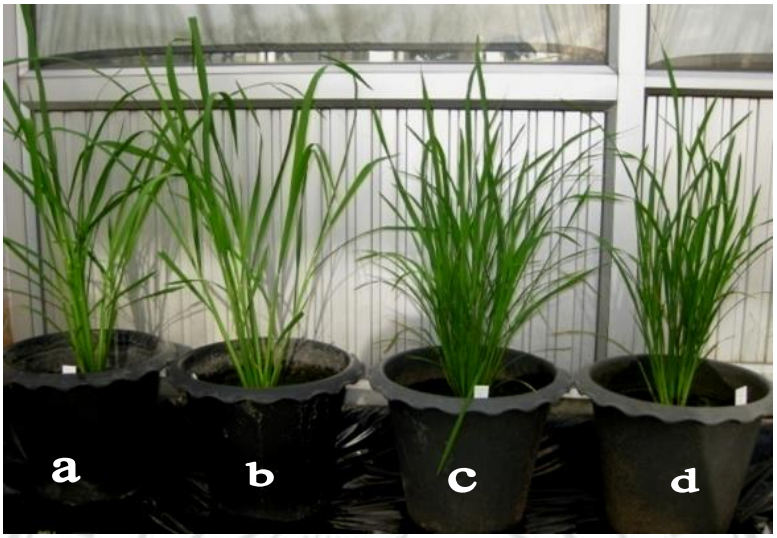
[2] ค่าเฉลี่ยจาก 50 เซลล์

4.8 การศึกษาลักษณะทางการสัณฐานวิทยา และลักษณะทางการเกษตรของต้นข้าวแฮพลอยด์

จากการนำต้นข้าวที่พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ของข้าวจำนวน 5 ต้น และต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวจำนวน 3 ต้น มาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน จนได้ต้นที่มีความสมบูรณ์ นำมาเพิ่มจำนวนต้นด้วยสูตรอาหารแตกกอสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร และนำต้นข้าวที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนอีกครั้งเพื่อชักนำให้เกิดรากเพิ่มความสมบูรณ์ของต้น จากนั้นจึงย้ายออกปลูกในกระถางขนาด 12 นิ้ว ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 หลังจากปลูก 7 วัน เพื่อศึกษาความแปรปรวนในลักษณะทางการสันฐานวิทยาและลักษณะทางการเกษตรของต้นข้าวแฮพลอยด์

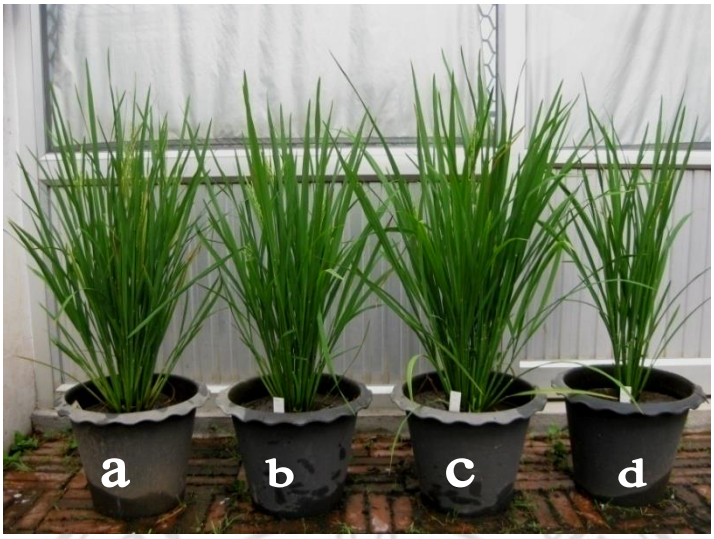
จากการศึกษาความแปรปรวนในลักษะทางสันฐานวิทยาของต้นข้าวแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ และต้นข้าวแฮพอลยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าว พบว่าต้นแฮพลอยด์มีลักษณะทางสันฐานวิทยาแตกต่างจากต้นปกติคือ มีลักษณะทรงต้นต้นเตี้ย ลำต้นเล็กเรียว ใบแคบ รวงและดอกสั้น ไม่ติดเมล็ด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นข้าวปกติซึ่งมีลักษณะทรงต้นสูง ลำต้นค่อนข้างใหญ่ ใบกว้าง รวงยาว และติดเมล็ด ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากทั้งการเพาะเลี้ยงรังไข่และอับเรณูแสดงลักษณะของต้นแอพลอยด์ที่เหมือนกัน ในระยะแตกกอพบว่าต้นข้าวแฮพลอยด์มีการแตกกอมากกว่าต้นข้าวปกติ แต่ลำต้นและใบเล็กกว่า (ภาพที่ 4.19) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ จำนวน 5 ต้น แสดงลักษณะต้นแฮพพลอยด์ทั้งหมด (ภาพที่ 4.20) เช่นเดียวกับต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูแสดงลักษณะต้นแฮพลอยด์ทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (ภาพที่ 4.21) เมื่อเข้าสู่ในระยะตั้งท้องพบว่าต้นแฮพลอยด์มีความสูงเป็นครึ่งหนึ่งของ

ต้นปกติ ลำต้นเล็ก ใบแคบ (ภาพที่ 4.22) และเมื่อเข้าสู่ระยะออกรวงพบว่า ช่อดอกของต้นแฮพลอยด์เล็กและสั้นกว่าต้นปกติ ดอกเล็ก และไม่พบการติดเมล็ด (ภาพที่ 4.23)



ภาพที่ 4.19 ลักษณะต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ในระยะแตกกอ (a) (b) ต้นปกติ และ (c) (d) ต้นแฮพลอยด์

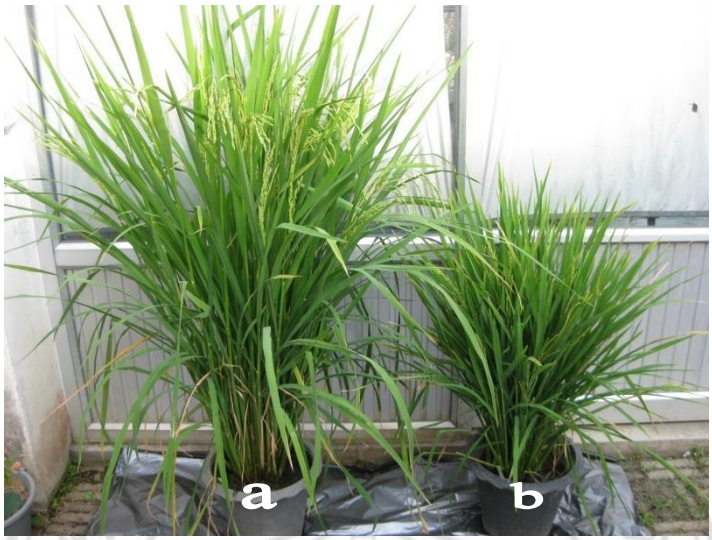
ภาพที่ 4.20 ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่หลังจากปลูกในกระถางเป็นเวลา 80 วัน (a) ต้นที่ 1 (clone 1) (b) ต้นที่ 2 (clone 2) (c) ต้นที่ 3 (clone 3) (d)ต้นที่ 4 (clone 4) และ (e) ต้นที่ 5 (clone 5)



ภาพที่ 4.21 เปรียบเทียบระหว่างต้นแฮพลอยด์ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ และต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากอับเรณู (a) ต้นแฮพลอยด์ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (b) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากอับเรณูต้นที่ 1 (clone 1) (c) ต้นที่ 2 (clone 2) และ (d) ต้นที่ 3 (clone 3)

ภาพที่ 4.22 ลักษณะของต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นข้าวแฮพลอยด์ระยะตั้งท้อง (a) ต้นปกติสายพันธุ์ CH75 (b) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ และ (c) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.23 ลักษณะของต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นข้าวแฮพลอยด์ระยะออกรวง (a) ต้นข้าวปกติ และ (b) ต้นข้าวแฮพลอยด์

จากการศึกษาลักษณะทางการเกษตรของต้นข้าวแฮพลอยด์โดบเปรียบเทียบกับต้นปกติพบว่า

1. ความสูงโดยเฉลี่ยของต้นแฮพลอย์สูงสุด 82.71 เซนติเมตร ต่ำสุด 63.38 เซนติเมตร เฉลี่ย 73.05 เซนติเมตร ต้นปกติสูงสุด 132.80 เซนติเมตร ต่ำสุดที่ 129.75 เซนติเมตร เฉลี่ย 131.44 เซนติเมตร

2. จำนวนต้นต่อกอโดยฉลี่ยของต้นแฮพลอย์สูงสุดอยู่ 74.75 ต้นต่อกอ ต่ำสุด 55.50 ต้นต่อกอ เฉลี่ย 65.13 ต้นต่อกอ ต้นปกติสูงสุด 59.25 ต้นต่อกอ ต่ำสุด 53.25 ต้นต่อกอ เฉลี่ย 56.00 ต้นต่อกอ

3. อายุวันออกดอกเฉลี่ยของต้นแฮพลอย์สูงสุดอยู่ที่ 77.67 วัน ต่ำสุด 66.00 วัน เฉลี่ย 71.82 วัน ต้นปกติ สูงสุด 95.75 วัน ต่ำสุดอยู่ 93.80 วัน เฉลี่ย 94.78 วัน

4. ความยาวช่อดอกโดยเฉลี่ยของต้นแฮพลอย์สูงสุด 20.88 เซนติเมตร ต่ำสุด 17.00 เซนติเมตร เฉลี่ย 18.94 เซนติเมตร ต้นปกติสูงสุด 26.66 เซนติเมตร ต่ำสุด 25.75 เซนติเมตร เฉลี่ย 26.21 เซนติเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. จำนวนช่อดอกต่อกอโดยเฉลี่ยของต้นแฮพลอย์สูงสุด 59.67 ช่อดอกต่อกอ ต่ำสุด 47.50 ช่อดอกต่อกอ เฉลี่ย 53.59 ช่อดอกต่อกอ ต้นปกติสูงสุด 61.60 ช่อดอกต่อกอ ต่ำสุด 57.75 ช่อดอกต่อกอ เฉลี่ย 59.68 ช่อดอกต่อกอ

6. เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดไม่พบการติดเมล็ดในต้นข้าวแฮพพลอยด์ ในขณะที่ต้นปกติเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด 77.00 ถึง 76.00 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 77.50 เปอร์เซ็นต์

7. นำหนัก 100 เมล็ด ไม่พบการติดเมล็ดในต้นข้าวแฮพพลอยด์ ในขณะที่ต้นปกติให้น้ำหนักเมล็ดเฉลี่ย 3.06 ถึง 3.17 กรัม เฉลี่ย 3.12 กรัม (ตารางที่ 4.7)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.7 ลักษณะทางการเกษตรของต้นข้าวแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (HO) และอับเรณู (HA) เปรียบเทียบกับต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH71 และ CH75

สายพันธุ์	ลักษณะทางการเกษตร						
	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้นต่อกอ (ต้น)	อายุวันออกดอก (วัน)	ความยาวช่อดอก (ซม.)	จำนวนช่อดอกต่อกอ	เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)
CH71	**129.75 ± 7.54**	**59.25 ± 7.76**	**95.75 ± 2.50**	**25.75 ± 1.26**	**57.75 ± 12.97**	**77.00 ± 8.12**	**3. 17 ± 0.26**
CH75	**132.80 ± 4.97**	**53.40 ± 14.98**	**93.80 ± 1.64**	**26.66 ± 1.34**	**61.60 ± 10.53**	**76.00 ± 8.86**	**3.06 ± 0.22**
HO1	82.71 ± 3.82	60.00 ± 7.70	72.29 ± 2.06	20.29 ± 2.43	51.43 ± 8.66	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HO2	75.00 ± 6.22	55.50 ± 7.59	66.00 ± 2.31	19.25 ± 2.06	47.50 ± 5.80	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HO3	73.50 ± 5.32	63.50 ± 9.97	77.67 ± 3.14	18.17 ± 1.72	56.83 ± 9.43	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HO4	63.38 ± 6.07	63.75 ± 6.25	68.88 ± 3.40	19.75 ± 2.31	53.63 ± 7.19	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HO5	68.33 ± 4.04	66.00 ± 9.00	68.00 ± 0.00	17.00 ± 1.73	59.67 ± 10.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HA1	74.00 ± 7.25	74.75 ± 6.39	77.38 ± 4.47	20.88 ± 1.89	67.88 ± 6.66	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HA2	69.13 ± 8.03	68.00 ± 5.37	67.63 ± 2.33	18.38 ± 1.06	55.13 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
HA3	71.60 ± 5.86	69.80 ± 6.22	76.00 ± 0.00	20.20 ± 1.30	59.40 ± 10.06	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved